CD3-4-8 Gems™

Cuantificación de los linfocitos T y las subpoblaciones CD4 y CD8 en sangre humana total anticoagulada con EDTA utilizando el analizador CELL-DYN Sapphire™ de Abbott

REF[1] IQP-300 50 tests prospecto

IVD Para uso diagnóstico *in vitro* CE

Este producto está registrado como producto "para uso diagnóstico in vitro" en los países que pertenecen a la Comunidad Europea. En todos los demás países se deberá etiquetar como "sólo para uso en investigación".

Uso previsto

El kit CD3-4-8 Gems™ se utiliza para la cuantificación de los linfocitos T y las subpoblaciones CD4 y CD8 en sangre humana total anticoagulada con EDTA. Los linfocitos colaboradores-inductores son una subpoblación de los linfocitos T (CD3 positivos) que son CD4 positivos (CD4+). La cantidad de linfocitos T (CD3+ CD4+) colaboradores-inductores puede servir para caracterizar y controlar algunas formas de inmunodeficiencia y enfermedades autoinmunes. La cantidad de linfocitos T colaboradores-inductores puede ser útil en la monitorización de pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Estos pacientes muestran generalmente una disminución estable de los linfocitos T colaboradores-inductores durante el progreso de la infección.

Principio del ensayo

El kit CD3-4-8 Gems™ se utiliza para la cuantificación de los linfocitos T y las subpoblaciones CD4 y CD8 y se basa en combinaciones de anticuerpos, CD3/CD4 y CD3/CD8, y etiquetas en el kit, junto con tubos de *13x75* de 3,5 ml sin aditivos (n° cat. 454045, Z tubos de 3,5 ml sin aditivos, Vacuette®, Greiner Bio-one). Por favor, tenga en cuenta que estos tubos no se suministran. El ensayo está diseñado para el uso en los analizadores hematológicos automatizados CELL-DYN Sapphire™ de Abbott con los reactivos (diluyente/envolvente) suministrados por Abbott y pertenecientes a la plataforma.
El CELL-DYN Sapphire™ reconoce los diferentes tubos por las etiquetas de código de barras suministradas en el kit y realiza la evaluación correspondiente siguiendo el protocolo pertinente. El primer tubo permite determinar el número de linfocitos T CD3+ CD4+, por los anticuerpos CD3 (UCHT-1) y CD4 (Edu-2) presentes en el cóctel. El segundo tubo permite determinar el número de linfocitos T CD3+ CD8+, por los anticuerpos CD3 (UCHT-1) y CD8 (MCD8) utilizados en el segundo cóctel de anticuerpos. El software de CELL-DYN Sapphire™ reconoce automáticamente las diferentes poblaciones de glóbulos blancos y calcula la población de CD3+ CD4+, la población de CD3+ CD8+ y la relación entre ambas poblaciones.

Contenido del kit

Reactivo A	Reactivo CD3/CD4 (vial con tapón naranja) Contiene 0,2% de BSA y 0,09% de NaN_3	0,5 ml
Reactivo B	Reactivo CD3/CD8 (vial con tapón verde) Contiene 0,2% de BSA y 0,09% de NaN_3	0,5 ml
Etiqueta A	Etiqueta del código de barras "Tubo 1" (barras naranjas)	54 uds.
Etiqueta B	Etiqueta del código de barras "Tubo 2" (barras verdes)	54 uds.

Cada kit contiene suficientes reactivos y etiquetas para realizar 50 ensayos y requiere el uso de un tubo con reactivo CD3/CD4 con la etiqueta del código de barras del Tubo 1 y un tubo con reactivo CD3/CD8 con la etiqueta del código de barras del Tubo 2.

Materiales de laboratorio necesarios pero no suministrados

Centrífuga de laboratorio (viales de 2 ml.); tubos *13x75* de 3,5 ml. sin aditivos (n° cat. 454045, Z tubos de 3,5 ml. sin aditivos, Vacuette®, Greiner Bio-one); tubos de extracción de sangre con anticoagulante EDTA; micropipetas y puntas ajustables; CELL-DYN Sapphire™ de Abbott.

Almacenamiento

Una vez recibido, conserve el kit a una temperatura de 2 a 8 °C. Evite la luz solar directa. Los reactivos almacenados según las instrucciones de almacenamiento señaladas son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Para ensayos reiterados, conserve los reactivos inmediatamente después del uso a una temperatura de 2 a 8 °C.

Advertencias y precauciones

Los reactivos que contienen azida de sodio pueden reaccionar con cañerías de plomo o cobre formando acumulaciones de azidas metálicas explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr una cantidad abundante de agua para evitar acumulaciones de azidas. Todos los reactivos deben ser manipulados siguiendo buenas prácticas de laboratorio y tomando las precauciones adecuadas. Asimismo, todas las muestras de pacientes se deben manipular con las precauciones adecuadas. No pipetee con la boca y lleve guantes durante el proceso.
El ensayo debe ser realizado por técnicos de laboratorio debidamente cualificados y autorizados. Contacte con el fabricante si el kit de ensayo original está dañado.

Extracción y preparación de muestras

Procesamiento de la muestra de sangre

- Extraiga una muestra de sangre venosa de forma aséptica por punción venosa en un tubo con anticoagulante EDTA.
- La muestra de sangre se debe conservar a temperatura ambiente (20 a 25 °C) hasta su procesamiento.
- Procese la muestra de sangre dentro de las 12 horas siguientes a la extracción. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo máximo de tiempo tras la extracción de sangre cuando sea necesario procesar muestras de sangre más de 12 horas después de su extracción.

Requisitos del instrumento

Nota 1 *Asegúrese de que el CELL-DYN Sapphire™ esté calibrado correctamente utilizando microesferas de calibración fl. CELL-DYN de Abbott.*

Nota 2 *Se recomienda realizar con regularidad la calibración y el mantenimiento del instrumento.*

Procedimiento de ensayo CD3-4-8 Gems™

Nota 3 *Antes de realizar el ensayo, girar brevemente los dos envases viales con la mezcla de anticuerpos en la centrífuga para asegurar que todo el reactivo se deposite en la parte inferior del vial.*

Nota 4 *Asegúrese de utilizar puntas de pipeta nuevas con cada paso de pipeteo.*

1. Prepare un tubo de 3,5 ml 'Sin aditivos' con un tapón perforable (no suministrado) adhiriendo una etiqueta del código de barras (barras naranjas) del Tubo 1, CD3/CD4, sobre la etiqueta blanca del tubo.
2. Añada 10 µl de reactivo del vial CD3/CD4 (tapón naranja) en la PARTE INFERIOR de este Tubo 1. Evite que el reactivo se deslice por las paredes internas del tubo.
3. Prepare un segundo tubo de 3,5 ml 'Sin aditivos' con un tapón perforable adhiriendo una etiqueta del código de barras (barras verdes) del Tubo 2, CD3/CD8, sobre la etiqueta blanca del tubo.
4. Añada 10 µl de reactivo del vial CD3/CD8 (tapón verde) en la *PARTE INFERIOR* de este Tubo 2. Evite que el reactivo se deslice por las paredes internas del tubo.
5. Asegúrese de que los 10 µl estén en la parte inferior de los dos tubos y mantenga el tubo en posición vertical.
6. Coloque los tubos en el rack del analizador hematológico detrás del tubo con la muestra de sangre del paciente anticoagulada con EDTA que se debe analizar. Primero el Tubo 1, después el Tubo 2.
7. Programe el analizador hematológico siguiendo las instrucciones del fabricante. Consulte el Manual del Operador de los Sistemas CELL-DYN Sapphire™, Sección: Ensayo CELL-DYN Immuno T-Cell™ (CD3/4/8).

Resultados

Los resultados de la evaluación de las muestras de sangre del paciente son una fuente cuantitativa y fiable para determinar el porcentaje de linfocitos T CD3+/CD4+ y CD3+/CD8+ en sangre periférica. Los valores de referencia para donantes sanos que se han publicado son CD3+ 73% (55 - 85%), CD4+ 43% (28 - 58%) y CD8+ 29% (10 - 48%) [1, 2].

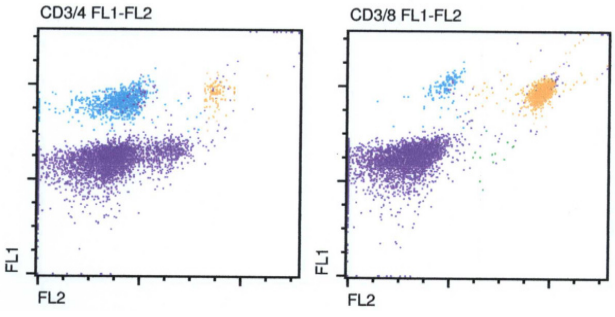


Figura 1. Muestra de sangre de un donante VIH positivo con marcadores dobles de D3/CD4 y CD3/CD8 y analizada con la plataforma CELL-DYN Sapphire™ de Abbott.

En la figura anterior se muestra un resultado típico obtenido con el kit CD3-4-8 Gems™. La exactitud del ensayo depende en gran medida de la calibración correcta del CELL-DYN Sapphire™. Los resultados de CD3-4-8 Gems™ son calculados por el software de CELL-DYN Sapphire™ diferenciando los linfocitos del recuento de glóbulos blancos (WBC) y utilizando las señales de CD3, CD4 y CD8 para clasificar las diferentes subpoblaciones de linfocitos T. El CELL-DYN Sapphire™ informa automáticamente de los diferentes valores del recuento de células sanguíneas (CBC) y los linfocitos T.

Control de Calidad

Todos los reactivos en el kit CD3-4-8 Gems™ así como la linealidad y precisión de la medición han sido sometidos a pruebas en muestras con diferentes relaciones de CD4/CD8.

Limitaciones del Procedimiento

- El personal con experiencia en técnicas asépticas debería realizar la extracción de la muestra de sangre.
- El personal debería recibir formación para manipular el CELL-DYN Sapphire™ y saber cómo interpretar los datos.
- El kit CD3-4-8 Gems™ está diseñado para su uso en combinación con el CELL-DYN Sapphire™ de Abbott, pero *no* para el uso con citometría de flujo o microscopía inmunofluorescente.
- La eficacia del kit CD3-4-8 Gems™ con muestras que no son células humanas no ha sido establecida.
- El kit CD3-4-8 Gems™ ha sido diseñado para *Uso Diagnóstico In Vitro*.
- La exactitud de los resultados con el procedimiento CELL-DYN™ depende de la alineación y calibración correcta del láser así como de la configuración adecuada de la ventana de análisis ("gate").
- No se puede excluir un cambio en las cantidades y porcentajes de linfocitos T CD3+ CD4+ y CD3+ CD8+ detectados si las células se conservan a temperatura ambiente durante más de 12 horas.
- CELL-DYN™ indica si los tubos se han colocado en la máquina en orden incorrecto.
- Si los reactivos se colocan en los tubos erróneos, la máquina NO indicará el error. El técnico deberá comprobar las gráficas de puntos ("dot plots") tal y como se indican en la figura anterior. La gráfica con CD3/4 FL1-FL-2 debe mostrar una población más pequeña (monocitos) a la derecha de la población inferior izquierda. ***En caso de duda, volver a realizar la muestra.***
- Una respuesta correcta del kit CD3-4-8 Gems™ depende de un recuento de glóbulos blancos (WBC) válido. Si sospecha que uno de los valores en el recuento de células sanguíneas (CBC), recuento completo de glóbulos blancos (WBC), no es válido según las indicaciones en la pantalla o el informe impreso, no realice el ensayo.
- Se recomienda realizar un recuento a fondo con cada nuevo lote de CD3-4-8 Gems™ y después de la conexión de nuevos buffers al sistema.
- Los procedimientos de control de calidad se deben realizar con regularidad siguiendo las indicaciones del Manual de Operador suministrado con el CELL-DYN Sapphire™.

Valores previstos

Cada laboratorio debería establecer sus propios rangos normales de referencia.

Características analíticas

Especificidad de unión de los anticuerpos

Los tres anticuerpos han sido clasificados en los Talleres internacionales de antígenos de diferenciación de leucocitos humanos (HLDA).

Linealidad

Para determinar la linealidad, la muestra con hemograma normal ha sido enriquecida en las células y después se ha realizado una dilución en serie.
Se ha mostrado linealidad en rangos

0,03 x 109 células/L a 7,1 x 109 células/L para CD3
0,03 x 109 células/L a 5,2 x 109 células/L para CD4
0,03 x 109 células/L a 1,8 x 109 células/L para CD8

Precisión

Variabilidad interensayo

La medición de diez muestras con un hemograma normal en dos analizadores diferentes resultó en los coeficientes de variación (CV) indicados en el cuadro 1.

Cuadro 1. Coeficiente de variación (CV) interensayo respecto a las mediciones en dos analizadores diferentes		
CD3	CD4	CD8
0,8% (máx. 2,3%)	1,8% (máx. 4,6%)	2,1% (máx. 4,9%)

Variabilidad intraensayo (imprecisión)

El coeficiente de variación intraensayo ha sido establecido por un técnico analizando diez muestras con un hemograma normal por triplicado (cuadro 2.)

Cuadro 2. Coeficiente de variación (CV) intraensayo para mediciones por triplicado		
CD3	CD4	CD8
1,4% (máx. 3,6%)	1,8% (máx. 5,2%)	4,3% (máx. 8,8%)

Recuento a fondo

El recuento a fondo se determinó colocando dos tubos de ensayo detrás de un tubo de muestra vacío. Para el recuento total de WBC, el valor promedio fue de $0{,}005 \times 10^9$ WBC/L ± 0,003. CD3, CD4 y CD8 fueron equivalentes o inferiores a este valor.

Arrastre

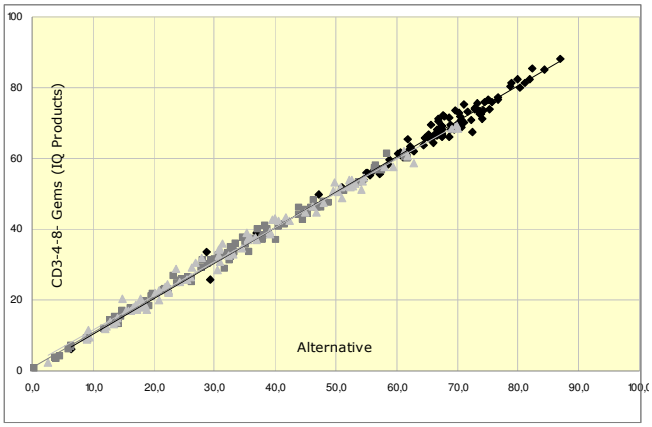
El arrastre desde el tubo 1 al tubo 2 se estableció realizando un ensayo sin la mezcla de anticuerpos CD3/CD8 en el tubo 2. El arrastre se estableció calculando el porcentaje de eventos CD3/CD8 positivos respecto al total de células CD3/CD4. Respecto al ensayo CD3-4-8 Gems™ el arrastre fue inferior al 0,3%.

Evaluación clínica (Correlación)

Durante el estudio clínico se evaluaron muestras EDTA de personas infectadas por VIH y no infectadas (n=80) con el kit CD3-4-8 Gems™ y un kit CD3/4/8 alternativo registrado para IVD para la plataforma CELL-DYN™.

Durante el estudio, los coeficientes de variación promedio entre el CD3-4-8 Gems™ y el ensayo alternativo para CD3, CD4 y CD8 fueron 1,7%, 3,1% y 3.4% respectivamente.

La correlación (R^2) entre CD3, CD4 y CD8 es superior a 0,975 para los marcadores individuales.



Bibliografía

1. J. Pediatr. 1997 Mar; 130(3):388-93.
2. Clin. Immunol. Immunopathol. 1991 Aug; 60 (2):190-208
3. Manual del Operador de CELL-DYN Sapphire™, Sección 12 'Ensayo CELL-DYN Immuno T-Cell™ (CD3/4/8)'; 9140424C Nov. 2007

CELL-DYN Sapphire™, CELL-DYN Immuno T-Cell™ y CELL-DYN™ son marcas comerciales registradas de Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, Estados Unidos. www.abbottdiagnostics.com
Vacuette® es una marca comercial registrada de Greiner Bio-One, Kremsmuenster, Austria. www.vacuette.gbo.com

Garantía

Únicamente se garantiza que los productos vendidos se corresponden con la cantidad y el contenido que figuran en la etiqueta en el momento de la entrega al cliente. No existe ninguna otra garantía, expresa o implícita, que se extienda más allá de la descripción en la etiqueta del producto. IQ Products BV no será responsable de los daños materiales, daños personales o pérdidas económicas causados por el producto.

Explicación de los símbolos utilizados

	Instrucciones de uso
REF	Número de producto
	Cantidad de tests por envase
IVD	Para uso diagnóstico in vitro
	Atención, consultar documento adjunto
	Proteger de la luz
	Riesgos biológicos
	Conservar en un rango de temperatura (°C)
RUO	Sólo para uso en investigación
LOT	Código de lote
	Uso por aaaa-mm-dd
	Fabricante
EC REP	Representante en la Comunidad Europea

©2012 - IQ Products BV. Reservados todos los derechos. Queda prohibida la reproducción total o parcial de esta obra en cualquier forma sin la debida autorización por escrito.